cBot Cluster Generation システム

イルミナシーケンスに必要なクローナルクラスターを、 1 分子の DNA テンプレートから 4 時間で形成する完全自動化システムです。 ハンズオンタイムは 10 分以下です。

さらに進化した次世代シーケンスワークフロー

cBot は、イルミナのシーケンスワークフローの中核をなす革新的な自動化クローナル増幅システムです（図 1、上パネル）。実験室にあふれる機器を 1 台のコンパクトな装置にまとめた cBot は、比類ない効率と使いやすさで最高品質のシーケンス結果を提供します。エマルジョン PCR 法では 6 時間以上かかるハンズオンタイムは、 cBot を利用すれば 10 分以下に短縮されます。また、 24 時間以上かかるシーケンステンプレートの作製プロセスは、わずか 4 時間で完了します（図 1、下パネル）。

画期的なクラスター形成システム

イルミナのシーケンスワークフローは、ほぼすべての核酸サンプルが利用できるライブラリー調製、増幅による

cBot の特長

- **迅速で効率的なワークフロー ：** 4 時間で 96 サンプル以上を増幅します。ハンズオンタイムは 10 分以下です。
- **最高の使いやすさ ：** 試薬はあらかじめ 96 ウェルプレートに分注されています。操作はタッチパネルで簡単に行えます。
- **革新的なシステムデザイン ：** リアルタイム流体モニタリング、統合システムセンサー、遠隔モニタリングにより、確実な動作を保証します。
- **最高品質の結果 ：** 改良されたケミストリーにより、より高密度のクラスターと高精度のシーケンスが得られます。

図 1. cBot によるクラスター形成の簡素化および効率化

cBot は数億個の 1 分子 DNA テンプレートを自動的かつ同時にクローナル増幅させ、シーケンステンプレートの作製に必要なハンズオンタイムおよび総所要時間を大幅に短縮します。

クローナルなクラスターの形成、大量並列シーケンスというシンプルな 3 つのステップで構成されています。cBot クローナル増幅システムは、ユーザーによる操作が不要、失敗のおそれがあるポイントが少ない、シーケンスの生産性が高いという革新的な特長を有します。

cBot クラスター形成試薬はあらかじめ 96 ウェルプレートに分注されているので、試薬の調製ミスは完全に排除され、コンタミネーションのおそれがなく、保管場所の必要性も減少します。 cBot の特長であるプレート穿孔機能を備えたユニークな 1 種類のマニフォールドにより、ユーザーによる操作が不要なランが行われます。クラスターは密閉された 8 チャンネルのイルミナフローセル内で形成されるため、エマルジョン PCR 法につきものの頻繁な操作やコンタミネーションの問題が解消されます。cBot は 1 つのフローセルで 96 サンプル以上を処理できるので、労力の増加や試薬の無駄を生じることなく、大幅なコスト削減をもたらします。革新的な機構により、シーケンスワークフローにおけるシームレスな操作を実現します（図 2）。

図 2. 迅速かつ簡便なクラスター形成を可能にする新しい cBot の特長

自動穿孔機能を備えた
1種類のディスポーザブルフロー
セルマニフォールドにより、
ユーザーによる操作は不要です

サーマルステージにより
端から端まで温度が均一に
保たれ、最適なクラスター
密度が得られます

マニフォールドクランプで
漏れのない接続と優れた
熱的接触を実現します

8チャンネルのフローセルが
コンタミネーションのリスクを
軽減し、装置の追加を不要にします

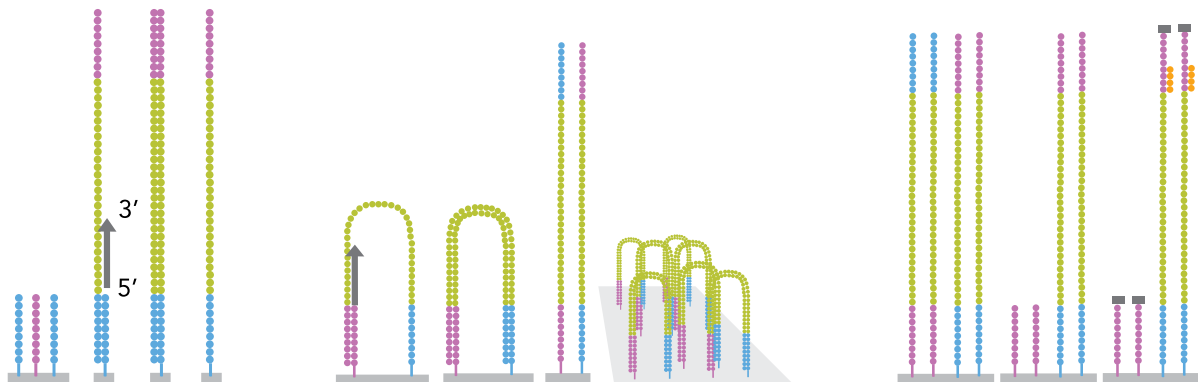
タッチパネルで簡単に
操作でき、リアルタイム
モニタリングも可能です

分注済みの96ウェル
試薬プレートにより、
調製ミスが排除されます

水位センサー付きの
廃液ボトルチャンバーで
アクセスしやすくなりました

統合バーコードリーダーで
自動的に情報を収集します

cBot クラスター形成システムは、イルミナシーケンスのために改良された次世代のワークフローです。この新しい画期的なシステムには、あらかじめ分注された試薬、 1 種類のマニフォールド、先進のフルイディクスおよびサーマルステージ、統合センサー、遠隔モニタリング機能、簡便なデータ入力およびトラッキングを可能にするタッチパネルとバーコードスキャナーが含まれます。

図 3. 定温ブリッジ増幅によるクラスター形成

1 分子 DNA テンプレートからのクラスター形成は、密閉されたイルミナフローセル内で生じます。クラスター形成は、固定化および 3' 伸長、ブリッジ増幅、直線化およびハイブリダイゼーションからなります。

少ない労力でより良い結果を

充実した cBot ソフトウェアの双方向性の機能により、高い生産性を保証します。

- 8 インチのタッチパネルで簡単に操作できます。小型なので実験室で場所を取りません。
- マルチメディアヘルプが組み込まれ、タッチパネル上に段階的な説明が表示されるので、事前のトレーニングを受けていないユーザーでも操作が可能です。
- リアルタイム進捗インジケーターにより、一目でモニタリングが可能です。
- ウェブブラウザや電話での遠隔モニタリングにより、 1 人で複数のシステムを管理できます。
- ランが完了すると、またはユーザー操作が必要になると、 E メールで状況が通知されます。

CBOT クラスター形成プロセス

シーケンスの前に、1 分子 DNA テンプレートのブリッジ増幅を行い、フローセル内でクローナルクラスターを形成させます（図 3）

1 分子 DNA テンプレートの固定

フローセル表面に固定されたオリゴヌクレオチドに、数億個のテンプレートをハイブリダイズさせます。取り込みエラーを防ぐため High Fidelity DNA ポリメラーゼを用い、ハイブリダイズしたプライマーから 3' 方向へ伸長させてテンプレートをコピーします。元のテンプレートを変性させると、コピーがフローセル表面に固定された状態で残ります。

定温ブリッジ増幅

固定された DNA テンプレートのコピーを定温ブリッジ増幅により増幅させます。テンプレートは弧を描いて曲がり、フローセル表面に固定された近傍のオリゴヌクレオチドとハイブリダイズします。ハイブリダイズしたオリゴヌクレオチドから DNA ポリメラーゼによりテンプレートがコピーされて 2 本鎖 DNA ブリッジが形成され、変性により 2 本の 1 本鎖 DNA となります。これらの鎖が曲がって近傍のオリゴヌクレオチドとハイブリダイズすると、再度伸長が起こって新たな 2 本鎖 DNA ループが 2 個形成されます。定温変性・増幅のサイクルにより各テンプレートについてこのプロセスが繰り返されると、約 2,000 分子が含まれる個々の高密度クローナルクラスターが数百万個形成されます。

直線化、ブロッキング、プライマーハイブリダイゼーション

各クラスターの 2 本鎖 DNA ブリッジを変性させ、特定の塩基を切断することにより逆鎖を取り除くと、DNA の順鎖が残ります。シーケンス反応に干渉しないよう、DNA 鎖の 3' 末端とフローセルに固定されたオリゴヌクレオチドの 3' 末端をブロックします。シーケンスプライマーは、クラスター中のテンプレートの非結合末端側にあるイルミナアダプターの相補配列にハイブリダイズします。この時、フローセルには約 1,000 分子からなるクラスターが 2 億個以上含まれ、シーケンスが可能な状態となります。

まとめ

cBot 自動化クラスター形成システムを用いるイルミナのシーケンスは、簡便な次世代シーケンスの新たな基準を打ち立てるものです。分注済みの試薬、改良された高性能の装置、新たなクラスター形成ケミストリーにより、エマルジョン PCR 法を大幅に上回るメリットがもたらされ、より高密度のデータと高精度のシーケンスが得られます。イルミナは、重要なステップであるクローナル増幅を簡素化した次世

製品情報

製品名	カタログ番号
cBot Cluster Generation システム cBot、フローセルアダプタープレート、1 年保証書、取扱説明書	SY-301-2002
cBot Single Read Cluster Generation Kit フローセル、試薬プレート、マニフォールド、取扱説明書	お問い合わせ
cBot Paired End Cluster Generation Kit フローセル、試薬プレート、マニフォールド、PE 試薬、取扱説明書	

代シーケンスワークフローにより、研究成果の発見と発表を推し進めていきます。

追加情報

イルミナのシーケンスについての詳しい情報は、弊社ウェブサイトをご覧いただくか、弊社までお問い合わせください。

レーザー光について

バーコードスキャナーの可視光線を見つめないでください。バーコードスキャナーはクラス 2 のレーザー製品です。

CBOT システムの仕様

カタログ番号

SY-301-2002

装置の構成

CEマーク取得およびETL認定装置
インストールのセットアップおよび付属品

装置制御コンピューター

Celeron Mプロセッサ搭載Mini-ITX Board

1 GB RAM、 80 GB ハードドライブ
Windows Embedded OS

8 インチタッチパネル

動作環境

温度：22゜C ± 3゜C

湿度：20%～80%、結露なきこと

高度：2,000 m（6,500 ft）未満

空気質：汚染度評価II

屋内での使用のみ

レーザー

クラス2レーザー：630～650 nm

寸法

幅×奥行×高さ：38 cm×62 cm×40 cm

重量：34 kg

梱包箱の重量：36 kg

所要電力

100～240V AC 50/60 Hz、4A、400 W

イルミナ株式会社

〒108-0014
東京都港区芝5-36-7　三田ベルジュビル22階
Tel (03)4578-2800　Fax (03)4578-2810
www.illuminakk.co.jp

代理店

本製品の使用目的は研究に限定されます。

Pub. No. 770-2009-J032 01APR10